

**Thesis Title** Flow Injection-Bead Injection System for Determination of Bone Alkaline Phosphatase

**Author** Miss Duangporn Somprayoon

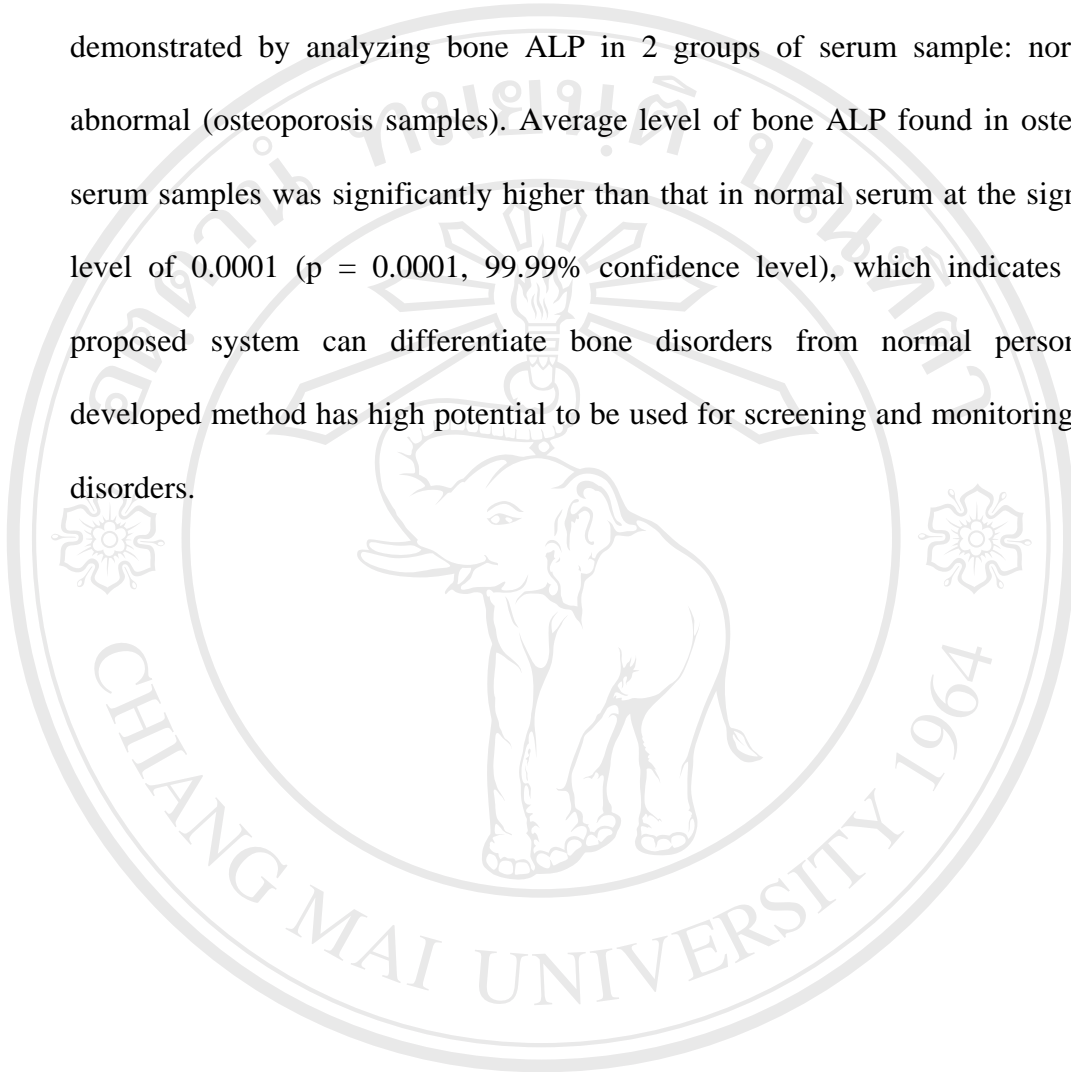
**Degree** Master of Science (Chemistry)

**Thesis advisor** Asst. Prof. Dr. Supaporn Kradtap

### ABSTARCT

A simple flow injection (FI)-bead injection (BI) system was developed for bone alkaline phosphatase (bone ALP) assay. Bone ALP as a biomarker has been used for monitoring the patients with metabolic bone diseases such as osteoporosis. Wheat germ can bind specifically to bone ALP and has very low cross binding to other isoenzymes such as liver ALP. Wheat germ coated micro-beads were used with a simple FI-BI system to trap bone ALP from serum. Bone ALP on beads was detected using substrate p-nitrophenyl phosphate. Precision within- and between-run were found to be 6% and 5% RSD, respectively. The lowest detectable activity using this simple FI-BI system of bone ALP was found to be 6.3 U/L at 95% confidence level. By average cross reactivity with liver ALP was 6%. Comparison of the FI-BI assay with commercially ELISA kit gave regression equation of  $y = 1.76x - 3.83$  with a correlation coefficient (r) of 0.74 at the significance level 0.001 ( $p = 0.001$ , 99.9% confidence level), where y = the FI-BI system and x = the commercially ELISA kit. Advantages of a simple FI-BI system over the conventional methods such as agglutination and ELISA include the ease of operation because of more automated system, good precision, short analysis time and lower cost. Each analysis can be

completed in only 25 min at the estimated cost of 400 baht/run as compared to 550 baht/run of commercial ELISA kit. The application of this FI-BI system was demonstrated by analyzing bone ALP in 2 groups of serum sample: normal and abnormal (osteoporosis samples). Average level of bone ALP found in osteoporosis serum samples was significantly higher than that in normal serum at the significance level of 0.0001 ( $p = 0.0001$ , 99.99% confidence level), which indicates that the proposed system can differentiate bone disorders from normal persons. This developed method has high potential to be used for screening and monitoring of bone disorders.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ระบบโพลีอินเจกชัน-บีคอินเจกชันสำหรับการหาปริมาณ

โบนอัลคาไลน์ฟอสฟาเทส

ผู้เขียน

นางสาวดวงพร โสสมประยูร

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร.สุภาภรณ์ ทรัพย์

บทคัดย่อ

ได้พัฒนาระบบโพลีอินเจกชัน-บีคอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับการหาปริมาณอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากกระดูก อัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากกระดูกนี้เป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพในการตรวจติดตามผู้ป่วยทางโรคกระดูก เช่น โรคกระดูกพรุน สารแลคตินที่ได้จากจมูกข้าวมีความสามารถในการจับที่จำเพาะต่ออัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากกระดูก และมีการรบกวนต่ำจากไอโซ-เอนไซม์อื่น เช่น อัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากตับ จึงได้นำไมโครบีดที่เคลือบด้วยสารแลคตินที่ได้จากจมูกข้าวร่วมกับระบบโพลีอินเจกชัน-บีคอินเจกชันอย่างง่ายเพื่อใช้จับอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากกระดูกที่พบในซีรัม อัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากกระดูกที่อยู่บนผิวบีคถูกตรวจวัดโดยใช้สารพารา-ไนโตรฟินิลฟอสเฟต ความแม่นยำภายในการทดลองและระหว่างการทดลอง ให้ค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพันธ์เท่ากับ 6 เปอร์เซ็นต์และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แอคติวิตีต่ำสุดของอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากกระดูกที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ณ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 6.3 ยูนิต์ต่อลิตร การรบกวนจากแอคติวิตีของอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากตับเท่ากับ 6 เปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ย เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการตรวจด้วยโพลีอินเจกชัน-บีคอินเจกชันกับชุดทดสอบเอนไซม์อิมมูโนแอสเสย์ทางการค้า พบว่า ที่ระดับนัยสำคัญ 0.001 ( $p = 0.001$ , ระดับความเชื่อมั่น 99.9%) มีความสัมพันธ์กันดังสมการ  $y = 1.76x - 3.83$  ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.74 โดยที่  $y$  คือโพลีอินเจกชัน-บีคอินเจกชัน และ  $x$  คือชุดทดสอบเอนไซม์อิมมูโนแอสเสย์ทางการค้า ข้อดีของระบบโพลีอินเจกชัน-บีคอินเจกชันอย่างง่ายเทียบกับระบบการตรวจวัดแบบเดิม เช่น การจับเพื่อให้เกิดตะกอนและ เอนไซม์อิมมูโนแอสเสย์ คือ ความง่ายในการทำวิเคราะห์และความเป็นอัตโนมัติมากขึ้น มีความแม่นยำ ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นและ มีราคาถูกลงกว่า ในแต่ละการ

วิเคราะห์ใช้เวลา 25 นาที ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ประมาณ 400 บาทต่อการวิเคราะห์ เทียบกับ 550 บาทต่อการวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบเอนไซม์อิมมูโนแอสเสย์ทางการค้า ได้นำวิธีวิเคราะห์นี้ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบตัวอย่างซีรัม 2 กลุ่มตัวอย่าง คือ กลุ่มตัวอย่างปกติและ กลุ่มตัวอย่างไม่ปกติ (ผู้ป่วยโรคกระดูกพรุน) พบว่า ที่ระดับนัยสำคัญ 0.0001 หรือระดับความเชื่อมั่น 99.99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเฉลี่ยของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจากกระดูกในกลุ่มตัวอย่างโรคกระดูกพรุนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงกว่ากลุ่มตัวอย่างปกติ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่เสนอนี้สามารถบ่งชี้ความแตกต่างของผู้ป่วยโรคกระดูกจากคนปกติ ดังนั้น วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีศักยภาพสูงที่จะนำไปใช้สำหรับการตรวจคัดกรองและ ตรวจติดตามผู้ป่วยทางโรคกระดูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved